

AVANCES RECIENTES Y PERSPECTIVAS CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS DEL BIOCONTROL EJERCIDO POR *TRICHODERMA* SPP.

*RECENT DEVELOPMENTS AND SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL
PERSPECTIVES OF BIOCONTROL EXERCISED BY TRICHODERMA
SPP.*

STEFANY REZA ESCANDÓN¹

CRISTÓBAL AGUILAR
GONZÁLEZ²

RAÚL RODRÍGUEZ
HERRERA²

GEORGINA MICHELENA
ÁLVAREZ³

ANNA ILINA¹

JOSÉ LUIS MARTÍNEZ
HERNÁNDEZ¹

RESUMEN

En la actualidad, la agricultura depende en gran medida de la utilización de productos químicos sintéticos para controlar los microorganismos fitopatógenos que provocan grandes pérdidas en los cultivos. Una alternativa promisorio para remplazar el uso de estos productos es la implementación de agentes de control biológico, tal es el caso de los hongos filamentosos pertenecientes al género *Trichoderma*. Estos microorganismos poseen diversos mecanismos para su supervivencia y proliferación incluyendo el micoparasitismo de hongos fitopatógenos, así como también la utilización de sustratos complejos y diversos. Estos atributos son de gran importancia económica puesto que conducen a la oportunidad de ser usados en la producción de metabolitos de interés para control biológico de fitopatógenos bajo el esquema de procesos inductivos, además de ser características susceptibles al mejoramiento genético para potencializar sus mecanismos de control como lo es la producción de enzimas.

Palabras clave: hongos; mecanismos; control; fermentación; enzimas.

ABSTRACT

1. Cuerpo académico de Nanobiociencias, Facultad de Ciencias Químicas, Unidad Sureste, UAdeC.

2. Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Unidad Sureste, UAdeC.

3. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, La Habana.

Correspondencia
jose-martinezo@uadec.edu.mx
ORCID 000-0002-5158-7812

*Currently, agriculture depends to a large extent on the use of synthetic chemicals to control phytopathogenic microorganisms that cause large losses in crops. A promising alternative to replace the use of these products is the implementation of biological control agents, such is the case of the filamentous fungi belonging to the genus *Trichoderma*. These microorganisms possess diverse mechanisms for their survival and proliferation including the mycoparasitism of phytopathogenic fungi as well as the use of complex and diverse substrates. These attributes are of great economic importance since they lead to the opportunity to be used in the production of metabolites of interest for biological control of phytopathogens under the scheme of inductive processes, besides being susceptible characteristics to the genetic improvement to potentiate its control mechanisms as it is the production of enzymes.*

Keywords: *fungi; mechanisms; control; fermentation; enzymes.*

INTRODUCCIÓN

El constante crecimiento de la población mundial ha motivado el incremento de la producción agrícola mediante la intensificación de la agricultura. Además, en los últimos tiempos se está priorizando la sostenibilidad, dónde el reto agrícola actual es conseguir el aumento del rendimiento de los cultivos, pero también obtener productos de alta calidad que al mismo tiempo sean seguros para la salud del consumidor y que no se impacte de manera desfavorable el medio ambiente. Una de las fuertes problemáticas de los cultivos es su susceptibilidad a los ataques por diversos microorganismos fitopatógenos que al estar presentes en niveles anormales afectan directamente la producción agrícola. El Consejo Nacional de Investigación de los Estados Unidos define el control biológico como el uso de organismos naturales o genéticamente modificados y el de sus genes o productos génicos para disminuir los efectos nocivos de los patógenos de plantas (Babbal y col., 2017). Los mecanismos de acción ejercidos por agentes de control biológico pertenecientes al género *Trichoderma* y la diversa gama de interacciones que se desenvuelven en el agroentorno, muestran la gran importancia que representa la presencia de enzimas, metabolitos secundarios y

moléculas implicadas en la señalización, las cuales de manera aislada o en conjunto se encuentran mejorando la salud de las plantas. El objetivo de esta revisión consiste en describir los mecanismos de control ejercidos por *Trichoderma*, avances recientes en el mejoramiento genético y procesos inductivos para la producción de enzimas que potencializan el control de hongos fitopatógenos.

DESARROLLO Y DISCUSIÓN

HONGOS FITOPATÓGENOS

Los hongos son organismos eucariontes aclorófilos que poseen pared celular y se alimentan por absorción de moléculas orgánicas. No provienen del mismo tronco evolutivo, la mayor parte de ellos son pluricelulares a excepción de algunas levaduras, producen esporas para su reproducción, aunque los conocidos como *Mycelia sterilia* no las producen y en su mayoría poseen una estructura somática filamentosa, excepto los plasmodioforomicetes. Englobando a los microorganismos y entes submicroscópicos que afectan a los cultivos tales como las bacterias, nemátodos, virus y viroides, los hongos constituyen el grupo más numeroso, encontrándose más de 8,000 especies causantes de enfermedades en plantas (Agrios, 2006). Los hongos fitopatógenos afectan a todos los cultivos y atacan las diversas partes de la planta provocando síntomas como la clorosis, que es la pérdida del color verde, necrosis que se refiere a la muerte de tejido la cual se manifiesta como lesiones discretas, tizón, pudrición, cancro y muerte descendente, también pueden causar marchitez y alteraciones del crecimiento tales como hiperplasia, hipertrofia, escoba de bruja y enanismo (Arauz, 1998). Uno de los hongos de mayor impacto por afectar un cultivo sustento de la dieta para millones de humanos es *Magnaporthe grisea* (*Pyricularia grisea*) agente causal de la piriculariosis del arroz (Tosa y Chuma, 2014). Otras enfermedades fungosas de gran impacto por su prevalencia son: *Puccinia graminis* agente causal de la roya de los cereales (Szabo y col., 2014), *Phytophthora infestans* que produce el tizón tardío, enfermedad destructiva del follaje de la papa y el tomate (Judelson, 2014), *Hemileia vastatrix* que provoca la roya del cafeto (Capucho y col., 2012) y *Colletotrichum gloeosporioides* que causa antracnosis en

frutales tropicales (Kamle y Kumar, 2016). Existen hongos que atacan una gran variedad de cultivos, como es el caso de *Rhizopus* sp., agente causal de podredumbre de muchas especies de frutas y verduras que generalmente se desarrolla durante su transporte y almacenamiento (Pitt y Hocking, 2009). Por otro lado, se han reportado a algunos hongos que son específicos en uno o pocos hospedantes, tal es el caso de los mildius vellosos como *Pseudoperonospora cubensis* que ataca cucurbitáceas y *Peronospora destructor* a cebollas (Horst, 2013). También se encuentran aquellos fitopatógenos cuya importancia radica en el riesgo que representa para la salud humana y animal la presencia de micotoxinas, como aquellas de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Alternaria*, especies fúngicas que atacan una gran diversidad de frutos, cereales y vegetales (Sanzani y col., 2016).

TRICHODERMA EN EL CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS

Trichoderma es un género de hongos filamentosos de distribución mundial abundante en el suelo de diversos ecosistemas y zonas climáticas. Incluye especies de gran valor por su capacidad para controlar hongos fitopatógenos foliares y de suelo que atacan a una amplia gama de plantas. Los mecanismos de control que ejerce son: la competencia por el espacio y los nutrientes, antibiosis enzimática, la producción de metabolitos secundarios y el micoparasitismo. Este último proceso comprende fases como el reconocimiento, penetración y muerte de su hospedero. Durante este proceso *Trichoderma* secreta enzimas que hidrolizan la pared celular del hongo huésped, el cual posee como componentes estructurales quitina, y glucanos como: β -1,3-glucanos, β -1,6-glucanos y β -1,4-glucanos (celulosa). Estos elementos están embebidos en una matriz proteica cuyos componentes intra-estructurales incluyen las manoproteínas, galactomanoproteínas, xilo-manoproteínas, glucurono-manoproteínas y α -1,3-glucanos (Feofilova, 2010), por lo tanto, el principal mecanismo de antagonismo contra hongos fitopatógenos es la secreción extracelular de enzimas quitinasas, glucanasas y proteasas (Geraldine y col., 2013a; Qualhato y col., 2013). También se sabe que la presencia de *Trichoderma* puede influir en la red fitohormonal de la planta huésped. Se ha demostrado como cepas de dicho género han promovido el crecimiento de plántulas de melón en vivero controlando a su vez el marchitamiento por *Fusarium* sp., dónde la estimulación

del crecimiento se asocia a la inducción de auxinas (Martínez y col., 2014) y la supresión de la enfermedad a la estimulación de los mecanismos de defensa de las plantas (Pandey y col., 2016). En la Tabla 1 se muestran ejemplos de especies de *Trichoderma* que han demostrado ejercer biocontrol contra hongos fitopatógenos.

Tabla 1. Ejemplos de biocontrol de hongos fitopatógenos ejercido por *Trichoderma*

Hongos fitopatógenos diana	Referencia
<i>Alternaria alternata</i>	(Sempere y Santamarina, 2007; Rios y col., 2016a)
<i>Botrytis cinerea</i>	(Dik y Elad, 1999; Tronsmo y Dennis, 1977; Rios y col., 2016b)
<i>Cercospora beticola</i>	(Galletti y col., 2008)
<i>Colletotrichum</i> spp.	(De los santos y col., 2013; Landero y col., 2015)
<i>Fusarium</i> spp.	(Ferrigo y col., 2014; De Souza y col., 2016; Toghueo y col., 2016)
<i>Pythium aphanidermatum</i>	(Kamala e Indira, 2011; Sain y Pandey, 2016)
<i>Phytophthora</i> spp.	(Sriwati y col., 2015; Jiang y col., 2016; García y col., 2017)
<i>Rhizoctonia solani</i>	(Anees y col., 2010; Kotasthane y col., 2015)
<i>Rosellinia necatrix</i>	(Freeman y col., 1986)
<i>Sclerotium rolfsii</i>	(John y col., 2015)
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	(Geraldine y col., 2013; Troian y col., 2014; Pérez y col., 2015)
<i>Septoria tritici</i>	(Perelló y col., 2009)
<i>Uromyces appendiculatus</i>	(Burmeister y Hau, 2009)

COMPUESTOS BIOACTIVOS DE *TRICHODERMA*

Los mecanismos de control de fitopatógenos tales como la antibiosis, el antagonismo, el micoparasitismo y la inducción de las respuestas de defensa de las plantas son estrategias características del género *Trichoderma*. La actividad de micoparasitismo le permite utilizar los componentes de la pared celular de su presa como nutrientes, cuya promoción del crecimiento resulta en la secreción de una diversa gama de metabolitos tanto volátiles como no volátiles involucrados en procesos de biocontrol.

COMPUESTOS VOLÁTILES

Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) son los metabolitos que las plantas y los microorganismos liberan al aire. Son importantes en la comunicación intra- e interespecífica en la rizosfera (Van Dam y col., 2016), siendo los infoquímicos de estructura como mono- y sesquiterpenos, alcoholes, cetonas, lactonas, ésteres o compuestos

C8 los que forman parte de la riqueza de las emisiones de compuestos volátiles microbianos. Sus efectos positivos y/o negativos en otros organismos, pueden convertirse en útiles herramientas agrícolas. Se ha demostrado que éstos promueven el desarrollo de plantas y su sistema de defensa. Así en los ensayos *in vitro* donde las plantas de *Arabidopsis thaliana* expuestas a los COVs de *T. virens* mostraron un aumento en 2 veces del peso total fresco en comparación con las plantas de semillero cultivadas axénicamente. Se observó la estimulación de la ramificación de raíces laterales, aumentando así su capacidad para absorber nutrientes. Se demostró la producción del ácido jasmónico, fitohormona que se produce cuando las plantas interactúan con patógenos potenciales o con insectos, activando cascadas de señalización que aumentan la inmunidad de la planta a través de cambios en la expresión génica. Además, se observó la producción del peróxido de hidrógeno, especie reactiva de oxígeno que al igual que el ácido jasmónico, desencadena respuestas de defensa. Ambos ayudan en el control de enfermedades, como en el caso del ensayo realizado con plantas infectadas con *Botrytis cinerea* que al ser expuestas a COVs de dos cepas de *Trichoderma* (Tv10.4 y Tv29.8), disminuyeron los síntomas de clorosis inducida y el porcentaje de plantas muertas de un 80% a un 10 y 15 % respectivamente (Contreras y col., 2014).

Entre los compuestos antifúngicos volátiles producidos por especies de *Trichoderma*, uno muy característico es el 6-n-pentil-2H-piran-2-ona (6-PAP), un policétido con aroma a coco dulce. El análisis de la actividad antifúngica de 6-PAP *in vitro* mostró inhibición micelial de *Fusarium culmorum* KF 846 al 100 % durante 7 días cuando se adicionó una concentración de 2.0 µg de 6-PAP por cada disco de agar de la cepa del hongo fitopatógeno. Dicho compuesto se encuentra implicado en complejas interacciones contra patógenos de plantas, así como otros más, como lo son: el 2-pentilfurano, tolueno, 3-octanona, α-bergamoteno, isobutirato de linalol, 2-metil-1-propenilbenceno, β-cimeno, alcohol isoamílico, 2-butanona, acetato de pentilo, 3-octanol, 2-nonanona, β-bisaboleno, octanoato de etilo, D-limoneno, 2-heptanol, β-pineno, 2-metilbutilacetato, 1-pentanol, alcohol fenil etílico, α-curcumeno, β-farneseno, α-cedreno, α-pineno, 1-propanol, piridina, metil benzoato, acetona de geranilo, entre otros (Jeleń y col., 2014).

COMPUESTOS NO VOLÁTILES

El género *Trichoderma* produce una gran variedad de metabolitos secundarios involucrados en procesos de señalización, interacción con otros organismos y actividades biológicas que poseen una gran capacidad para controlar hongos fitopatógenos. Como se mencionó anteriormente, la pared celular fúngica es una estructura compuesta en mayor proporción por carbohidratos (polisacáridos como los glucanos, quitina, celulosa entre otros) y en menor proporción por proteínas, lípidos, iones y pigmentos. Las especies de *Trichoderma* son eficientes productoras de enzimas hidrolíticas, como las del sistema quitinolítico (quitinasas y NAGasa), glucanolítico (β -1,3/1,4-glucanasas, α -1,3-glucanasas) y proteolítico, rompiendo dichos polisacáridos y proteínas, provocando la pérdida de integridad de la pared celular y con ello el colapso celular (Viterbo y col., 2002). La gliotoxina y la gliovirina son antibióticos producidos por *Trichoderma* para los cuales se ha documentado su actividad contra hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia solani*. Los ácidos harziánico e isoharziánico producidos por *Trichoderma* poseen actividad antifúngica y promueven la germinación de semillas y el crecimiento de las raíces. Además, el ácido harziánico se relaciona con propiedades sideróforas como agente quelante del hierro, solubilizándolo para poder ser asimilado y utilizado en los mecanismos de regulación de nutrientes de la planta. Peptaiboles, tales como suzukacilinas que poseen actividad antifúngica y trichokoninas que además han demostrado inducir el sistema de defensa de la planta, son sólo parte de la gran diversidad de metabolitos solubles que representan la fuente de la eficiencia del biocontrol ejercido por *Trichoderma* (Keswani y col., 2014; Patil y col., 2016).

MEJORAMIENTO DE CEPAS FÚNGICAS Y PROCESOS INDUCTIVOS

Con el fin de contar con microorganismos que posean características que los perfilen como buenos agentes de biocontrol, y productores de enzimas, se han buscado alternativas para lograr superar las marcas definidas por la naturaleza. Es la razón por la cual se han realizado trabajos en los cuales se procede a mutar microorganismos. Tal es el caso del mejoramiento de *T. harzianum* CECT 2413 en el que se mutagenizó una suspensión conidial con N-metil-N'-N-nitrosoguanidina. El resultado fue un aumento en la actividad enzimática quitinasa por encima de la cepa parental y aumentos del

doble en actividad enzimática β -1,3 y β -1,6-glucanasa. Además, se observó un aumento en tres veces en la producción de proteínas extracelulares al emplear medios de cultivo con agentes inductores, mejorando la esporulación y el control contra *Rhizoctonia solani* en un menor tiempo, aunado a la protección de uvas contra *Botrytis cinerea* en ensayos *in vitro* (Rey y col., 2001). En respuesta a la necesidad de contar con cepas de hongos de eficiencias mejoradas, además de que su implementación genere la reducción de costos de producción, se han realizado trabajos para obtener cepas como la recombinante *T. reesei* TRB1, desarrollada a partir de *T. reesei* RUT-C30 mediante mutagénesis basada en T-DNA. Esta cepa recombinante mostró una mejora significativa en la actividad β -glucosidasa extracelular con una hiperproducción de 17 veces, así como también una alta producción de celulasa en un tiempo más corto, perfilándola como propicia para ser empleada en procesos de producción industrial (Li y col., 2016). Otros ejemplos de la transformación de genes como estrategia de biocontrol que ha mostrado resultados favorables, radica al estudio en el cual se realiza la transferencia del gen *chiV* al hongo *T. harzianum*. El microorganismo genéticamente modificado fue capaz de controlar casi por completo la viabilidad de *Rhizoctonia solani* aumentando su inhibición de un 82.4% a un 98.5% (Yang y col., 2011).

El gen SOD (súper óxido dismutasa) se transfirió a *T. harzianum*. Se observó que la cepa modificada después de haber sido sometida ante condiciones de estrés por aumento de temperatura y salinidad (40°C y NaCl 2 mol/L a 27° C durante 5-10 días) fue capaz de inhibir el crecimiento de *S. sclerotiorum* en un 83.9% y en 60.1% en las respectivas pruebas, a diferencia de la cepa parental la cual no sobrevivió ante dichas condiciones adversas (Yang y col., 2010).

Con la modificación de *T. reesei* mediante la expresión heteróloga de un gen de lipasa de *Talaromyces thermophilus* se logró que la cepa produjera lipasas con alta tolerancia alcalina y termoestabilidad con actividad enzimática de 241 UI/ml, reteniendo más del 70% de actividad después de haber sido disueltas a pH:11 o expuestas a 70°C durante 1 h (Zhang y col., 2015).

Por otro lado, se conoce que la producción de enzimas es sensible a la composición del medio de cultivo y presencia de los compuestos inductores. Así, se evaluó la respuesta de una cepa de *T. harzianum*

ETS 323 ante la presencia de micelio inactivado de hongos fitopatógenos adicionado al medio de cultivo de la cepa. Compararon la producción de enzimas β -1,3-glucanasas, β -1,6-glucanasas, quitinasas, proteasas y xilanasas obtenidas en los medios de cultivo los cuales contenían micelio inactivado de *Botrytis cinerea*, o de *T. harzianum*. Una mayor actividad de las enzimas se encontró en el medio de cultivo que contenía micelio inactivado de *B. cinerea* como única fuente de carbono, siendo en ese mismo medio en el que se detectó la inducción de L-aminoácido oxidasa (LAAO) y 2 endoquitinasas, no encontradas en los demás ensayos de fermentación (Yang y col., 2009).

En los estudios realizados con una cepa de *T. atroviride* nativa y transgénica con el gen endoquitinasa (ThEn-42) activado por el promotor de la celulasa cbh1 de *T. reesei* para sobreexpresión de ThEn-42 fueron evaluados 8 diferentes medios de cultivo. Se encontró que la fuente de carbono desempeñó un papel importante en la expresión de las enzimas de interés para control biológico. Los medios de cultivo caracterizados por tener como fuente de carbono quitina y celulosa, respectivamente, fueron los que permitieron obtener extractos con muy buena actividad antifúngica contra la germinación de *Penicillium digitatum*. Además, se demostró que los elementos trazan desempeñaron un papel determinante en los perfiles proteicos, observando tendencias de producción de extractos con mayores actividades antifúngicas en los medios de cultivo que contenían elementos como el Cu y el Mo (Deng y col., 2007).

VALORIZACIÓN DE SUSTRATOS PARA LA OBTENCIÓN DE MOLÉCULAS BIOACTIVAS

El procesamiento de materias primas provenientes de la agroindustria genera gran cantidad y una diversa gama de subproductos. *Trichoderma* ha demostrado la capacidad de aprovechar desechos vegetales derivados del procesamiento de frutas y verduras en cultivo sumergido (Ma'tat'a y col., 2016), este tipo de residuos, así como otros más pueden ser aprovechables en los procesos biotecnológicos, los cuales han mostrado ser un área de oportunidad. Los aumentos en la producción de biopesticidas, en respuesta a su creciente demanda en los últimos años, ha impulsado la búsqueda de estrategias convenientes para su producción. El aprovechamiento de residuos agroindustriales como sustratos, la reducción en el consumo de

energía, la poca generación de agua residual y la capacidad de obtener productos de alta estabilidad, son cualidades que la tecnología de fermentación en medio sólido ofrece (De la Cruz y col., 2014). La fermentación en medio sólido se define como un proceso microbiano que generalmente ocurre en materiales sólidos en ausencia de agua libre, cuyas ventajas en comparación con las brindadas por fermentaciones en medio líquido, representa una alternativa económica y eficaz para la generación de biomoléculas de interés en el control biológico con un alto valor agregado. La producción de enzimas para el biocontrol a partir de diversas especies de *Trichoderma* mediante fermentación en medio sólido aprovechando residuos agroindustriales, así como también diversos sustratos inductores se muestra en la Tabla 2.

CONCLUSIONES

Las especies de *Trichoderma* se encuentran en el ecosistema suprimiendo naturalmente hongos fitopatógenos. El género produce enzimas degradantes de la pared celular fúngica las cuales conducen al micoparasitismo, propiciando la reducción de las densidades de hongos fitopatógenos en el agroentorno. El aprovechamiento de residuos agroindustriales empleando tecnologías como la fermentación en medio sólido permite la obtención de dichas biomoléculas de manera sustentable, proceso en el cual la selección de sustratos adecuados, y microorganismos convenientes son la clave para lograr obtener extractos con mayores actividades antifúngicas. La implementación de cepas de *Trichoderma* mejoradas genéticamente y el uso de agentes inductores en el medio de cultivo son estrategias que permiten maximizar la producción de enzimas para el biocontrol, perfilándose como propicias para ser empleadas en procesos de producción.

Cepa	Sustrato	Reactor	Quitina (U/gds)		B-1,3- glucan (U/gds)		Celulasa (U/gds)		Proteasa (U/gds)	Lipasa (U/gds)	Autores
			Endo	Exo	Endo	Exo	Endo	Exo			
<i>T. longibranchiatum</i>	Bagazo de caña de azúcar, salvado de trigo, quitina, harina de	Columnas de vidrio		30				9.29		11.56	(De la Cruz y col., 2017)

	papa y aceite de olivo		7 4							
<i>T. yunnanense</i>						38 .3 2				
<i>T. viride</i> WEBL0703	Orujo de uva y lías de vino	Matraz Erlenmeyer	4 7 .8		8 .3 2					(Bai y col., 2008)
<i>T. harzianum</i> TUBF691	Salvado de trigo con quitina coloidal	Matraz Erlenmeyer	1 0 .7							(Sandhya y col., 2005)
<i>T. longibrachiatum</i> G26	Olote de maíz	Matraz Erlenmeyer					13 6.2			(Xie y col., 2015)
<i>Trichoderma</i> sp.	Bagazo crudo de palma de nuez	Matraz Erlenmeyer					6.9			(Lah y col., 2016)
	Bagazo desgrasado de palma de nuez						16. 1			
	Desperdicios vegetales						50. 1			
<i>T. reesei</i>	Residuo de maíz	Jarras		20 .3 2			1.8 4			(Safari Sinangani y col., 2009)
	Residuo de girasol			10 .5 6			1.6			
<i>T. atroviride</i> T42	Residuos de setas	Matraz Erlenmeyer					0. 76			(Grujić y col., 2015)
<i>T. konigii</i> TK1							0. 3			
<i>T. harzianum</i> T 10							0. 12			
<i>T. reesei</i> DSMZ 970	Cáscaras de papa	Matraz Erlenmeyer					41. 8			(Ben Taher y col., 2017)
<i>T. reesei</i> Rut-30	Residuos de cítricos con salvado de trigo	Matraz Erlenmeyer				55	25	23		(Oberoi y col., 2012)
<i>T. asperellum</i> T2-10	Olote de maíz con biomasa de <i>C. gloeosporioides</i>	Bolsa de polietileno	5 .1 1				2.5 8			(De la Cruz y col., 2017)
	Olote de maíz con biomasa de <i>P. capsici</i>		3 .6				7.8 2			
<i>Trichoderma</i> sp. T-II	Cáscaras de mango adicionadas con sales	Matraz Erlenmeyer					7.5			(Buenrostro y col., 2010)
<i>T. harzianum</i> FCLA 501	Bagazo de ricino	Matraz Erlenmeyer						2.16		(Coradi y col., 2013)
	Bagazo de caña de azúcar							0.20		
	Bagazo de ricino y yuca							2.70		
	Bagazo de ricino y residuos de maíz							2.70		
	Bagazo de ricino y de caña de azúcar							4.04		

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al CONACYT por la beca otorgada a Stefany Elizabeth Reza Escandón durante la realización de sus estudios de posgrado.

REFERENCIAS

- Agrios, GN. (2006). Enfermedades de las plantas causadas por hongos. Pp:273-530. *In*: Grupo Noriega (eds.). Fitopatología. Editorial Limusa S.A. De C.V., 1995. México. 838 p.
- Anees, M., Tronsmo, A., Edel-Hermann, V. y col. (2010). Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. *Fungal Biology*, 114:691-701. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.05.007>
- Arauz, L.F. (1998). Hongos fitopatógenos. Pp:105-136. *In*: Carazo G, Murillo M, Fernández G, Brenes S, Ramírez L, Araya C (eds.). Fitopatología Un Enfoque Agroecológico. Editorial de la Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 471p.
- Babbal, A., Khasa, Y.P. (2017). Microbes as biocontrol agents. Pp:507-552. *In*: Kumar V, Kumar M, Sharma S, Prasad R (eds.). Probiotics and Plant Health. Springer Singapore. Singapore. 600p. https://doi.org/10.1007/978-981-10-3473-2_24
- Bai, Z., Jin, B., Li, Y. y col. (2008). Utilization of winery wastes for *Trichoderma viride* biocontrol agent production by solid state fermentation. *Journal of Environmental Sciences*, 20:353-358. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)60055-8](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)60055-8)
- Ben Taher, I., Bennour, H., Fickers, P. y col. (2017). Valorization of potato peels residues on cellulase production using a mixed culture of *Aspergillus niger* ATCC 16404 and *Trichoderma reesei* DSMZ 970. *Waste and Biomass Valorization*, 8:183-192. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9558-5>
- Buenrostro-Figueroa, J., de la Garza-Toledo, H., Ibarra-Junquera, V. y col. (2010). Juice extraction from mango pulp using an enzymatic complex of *Trichoderma* sp. produced by solid-state fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 19:1387-1390. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0197-5>

- Burmeister, L., Hau, B. (2009). Control of the bean rust fungus *Uromyces appendiculatus* by means of *Trichoderma harzianum*: leaf disc assays on the antibiotic effect of spore suspensions and culture filtrates. *BioControl*, 54:575–585. <https://doi.org/10.1007/s10526-008-9202-9>
- Capucho, A.S., Zambolim, E.M., Freitas, R.L. y col. (2012). Identification of race XXXIII of *Hemileia vastatrix* on *Coffea arabica* catimor derivatives in Brazil. *Australasian Plant Disease Notes*, 7:189-191. <https://doi.org/10.1007/s13314-012-0081-7>
- Contreras-Cornejo, H.A., Macías-Rodríguez, L., Herrera-Estrella, A. y col. (2014). The 4-phosphopantetheinyl transferase of *Trichoderma virens* plays a role in plant protection against *Botrytis cinerea* through volatile organic compound emission. *Plant and Soil*, 379:261-274. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2069-x>
- Coradi, G.V., da Visitação, V.L., de Lima, E.A. y col. (2013). Comparing submerged and solid-state fermentation of agro-industrial residues for the production and characterization of lipase by *Trichoderma harzianum*. *Annals of Microbiology*, 63:533-540. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0500-1>
- De la Cruz-Quiroz, R., Robledo-Padilla, F., Aguilar, C.N. y col. (2017). Forced aeration influence on the production of spores by *Trichoderma* strains. *Waste and Biomass Valorization*, 8:2263-2270. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0045-4>
- De la Cruz-Quiroz, R., Roussos, S., Hernández-Castillo, D. y col. (2015). Challenges and opportunities of the bio-pesticides production by solid-state fermentation: filamentous fungi as a model. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35:326-333. <http://dx.doi.org/10.3109/07388551.2013.857292>
- De la Cruz-Quiroz, R., Roussos, S., Hernandez-Castillo, D. y col. 2017. Solid-state fermentation in a bag bioreactor: effect of corn cob mixed with phytopathogen biomass on spore and cellulase production by *Trichoderma asperellum*. Pp:43-56. In: Jozala AF (ed.). *Fermentation Processes*. InTech. 310 p. <http://dx.doi.org/10.5772/64643>
- De los Santos-Villalobos, S., Guzmán-Ortiz, D.A., Gómez-Lim. M.A., y col. (2013). Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) T8a as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.). *Biological Control*, 64:37-44. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.10.006>
- De Souza, J.T., Trocoli, R.O., Monteiro, F.P. (2016). Plants from the Caatinga biome harbor endophytic *Trichoderma* species active in the biocontrol of pineapple fusariosis. *Biological Control*, 94:25-32. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol>

I.2015.12.005

- Deng, S., Lorito, M., Penttilä, M. y col. (2007). Overexpression of an endochitinase gene (ThEn-42) in *Trichoderma atroviride* for increased production of antifungal enzymes and enhanced antagonist action against pathogenic fungi. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 142:81-94. <https://doi.org/10.1007/s12010-007-0012-9>
- Dik, A., Elad, Y. (1999). Comparison of antagonists of *Botrytis cinerea* in greenhouse-grown cucumber and tomato under different climatic conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 105:123-137 <https://doi.org/10.1023/A:1008778213278>
- Feofilova, E.P. (2010). The fungal cell wall: modern concepts of its composition and biological function. *Microbiology*, 79:711-720. <https://doi.org/10.1134/S0026261710060019>
- Ferrigo, D., Raiola, A., Rasera, R., and Causin, R. (2014). *Trichoderma harzianum* seed treatment controls *Fusarium verticillioides* colonization and fumonisin contamination in maize under field conditions. *Crop Protection*, 65:51-56. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.06.018>
- Freeman, S., Minz, D., Kolesnik, I., y col. (2004). *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and survival in strawberry. *European Journal of Plant Pathology*, 110:361-370. <https://doi.org/10.1023/B:EJPP.0000021057.93305.d9>
- Freeman, S., Szejnberg, A., Chet, I. (1986). Evaluation of *Trichoderma* as a biocontrol agent for *Rosellinia necatrix*. *Plant and Soil*, 94:163-170. <https://doi.org/10.1007/BF02374340>
- Galletti, S., Burzi, P.L., Cerato, C. y col. (2008). *Trichoderma* as a potential biocontrol agent for *Cercospora* leaf spot of sugar beet. *BioControl*, 53:917-930. <https://doi.org/10.1007/s10526-007-9113-1>
- Geraldine, A.M., Lopes, F.A.C., Carvalho, D.D.C. y col. (2013). Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. *Biological Control*, 67:308-316. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.09.013>
- Grujić, M., Dojnov, B., Potočnik, I. y col. (2015). Spent mushroom compost as substrate for the production of industrially important hydrolytic enzymes by fungi *Trichoderma* spp. and *Aspergillus niger* in solid state fermentation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 104:290-298. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.04.029>
- Horst, R.K. (2013). Downy mildews. Pp:181-186. In: Department of Plant Pathology and Plant-Microbe Biology, Cornell University (eds.). Westcott's Plant

Disease Handbook. Springer Science+Business Media Dordrecht. 826 p.
https://doi.org/10.1007/978-94-007-2141-8_27

Jeleń, H., Błaszczyk, L., Chełkowski, J. y col. (2014). Formation of 6-n-pentyl-2H-pyran-2-one (6-PAP) and other volatiles by different *Trichoderma* species. *Mycological Progress*, 13:589-600. <https://doi.org/10.1007/s11557-013-0942-2>

Jiang, H., Zhang, L., Zhang, J. y col. (2016). Antagonistic interaction between *Trichoderma asperellum* and *Phytophthora capsici* in vitro. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 17:271-281. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1500243>

John, N.S., Anjanadevi, I.P., Nath, V.S. y col. (2015). Characterization of *Trichoderma* isolates against *Sclerotium rolfsii*, the collar rot pathogen of *Amorphophallus* – a polyphasic approach. *Biological Control*, 90:164-172. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.07.001>

Judelson, H.S. (2014). *Phytophthora infestans*. Pp:175-208. In: Dean R, Lichens-Park A and Kole C (eds.). *Genomics of Plant-Associated Fungi and Oomycetes:Dicot Pathogens*. Springer, Berlin, Heidelberg. Alemania. 239 p. https://doi.org/10.1007/978-3-662-44056-8_9

Kamala, T., Indira, S. (2011). Evaluation of indigenous *Trichoderma* isolates from Manipur as biocontrol agent against *Pythium aphanidermatum* on common beans. *3 Biotech.*, 1:217–225. <https://doi.org/10.1007/s13205-011-0027-3>

Kamle, M., Kumar, P. (2016). *Colletotrichum gloeosporioides*: pathogen of anthracnose disease in mango (*Mangifera indica* L.). Pp:207-219. In: Kumar P, Gupta V, Tiwari A, Kamle M (eds.). *Current Trends in Plant Disease Diagnostics and Management Practices*. Fungal Biology. Springer, Cham. 469 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27312-9_9

Keswani, C., Mishra, S., Sarma, B.K. y col. (2014). Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98:533-544. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5344-5>

Kotasthane, A., Agrawal, T., Kushwah, R. y col. (2015). In-vitro antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter melon. *European Journal of Plant Pathology*, 141:523-543. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0560-0>

Lah, T.N.T., Norulaini, N.A.N., Shahadat, M. y col. (2016). Utilization of industrial waste for the production of cellulase by the cultivation of *Trichoderma* via solid state fermentation. *Environmental Processes*, 3:803-814.

<https://doi.org/10.1007/s40710-016-0185-8>

- Landero, V.N., Nieto, A.D., Téliz, O.D. y col. (2015). Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on maradol papaya fruit. *Biological Control*, 91:88-93. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.08.002>
- Li, C., Lin, F., Li, Y. y col. (2016). A β -glucosidase hyper-production *Trichoderma* reesei mutant reveals a potential role of cel3D in cellulase production. *Microbial Cell Factories*, 15:151. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0550-3>
- Ma'tat'a, M., Cibulová, A., Varečka, L. y col. (2016). Plant waste residues as inducers of extracellular proteases for a deuteromycete fungus *Trichoderma atroviride*. *Chemical Papers*, 70:1039-1048. <https://doi.org/10.1515/chempap-2016-0040>
- Martínez-Medina, A., Del Mar, Alguacil, M., Pascual, J.A. y col. (2014). Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. *Journal of Chemical Ecology*, 40:804-815. <https://doi.org/10.1007/s10886-014-0478-1>
- Marzano, M., Gallo, A., Altomare, C. (2013). Improvement of biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* vs. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* through UV-induced tolerance to fusaric acid. *Biological Control*, 67:397-408. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.09.008>
- Mbarga, J.B., Begoude, B.A.D., Ambang, Z. y col. (2014). A new oil-based formulation of *Trichoderma asperellum* for the biological control of cacao black pod disease caused by *Phytophthora megakarya*. *Biological Control*, 77:15-22. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.06.004>
- Oberoi, H.S., Babbar, N., Dhaliwal, S.S. y col. (2012). Enhanced oil recovery by pre-treatment of mustard seeds using crude enzyme extract obtained from mixed-culture solid-state fermentation of kinnow (*Citrus reticulata*) waste and wheat bran. *Food and Bioprocess Technology*, 5:759-767. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0380-y>
- Pandey, V., Shukla, A., Kumar, J. (2016). Physiological and molecular signaling involved in disease management through *Trichoderma*: an effective biocontrol paradigm. Pp:317-346. In: Kumar P, Gupta V, Tiwari A, Kamle M. (eds). *Current Trends in Plant Disease Diagnostics and Management Practices*. Fungal Biology. Springer, Cham. 469 p. https://doi.org/10.07/978-3-319-27312-9_14
- Patil, A.S., Patil, S.R., Paikrao, H.M. (2016). *Trichoderma* secondary metabolites: their biochemistry and possible role in disease management. Pp:69-102.

In: Choudhary D, Varma A (eds.). Microbial-mediated Induced Systemic Resistance in Plants. Springer Science+Business Media Singapore. Singapore. 226 p. https://doi.org/10.1007/978-981-10-0388-2_6

Perelló, A.E., Moreno, M.V., Mónaco, C. y col. (2009). Biological control of *Septoria tritici* blotch on wheat by *Trichoderma* spp. under field conditions in Argentina. *BioControl*, 54:113-122. <https://doi.org/10.1007/s10526-008-9159-8>

Pitt, J.I., and Hocking, A.D. (2009). Fresh and perishable foods. Pp:383-400. *In*: Fungi and Food Spoilage. Springer, Boston, MA. USA. 519 p. https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2_11

Qualhato, T.F., Lopes, F.A.C., Steindorff, A.S. y col. (2013). Mycoparasitism studies of *Trichoderma* species against three phytopathogenic fungi: evaluation of antagonism and hydrolytic enzyme production. *Biotechnology Letters*, 35:1461-1468. <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1225-3>

Rey, M., Delgado-Jarana, J., Benítez, T. (2001). Improved antifungal activity of a mutant of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 which produces more extracellular proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 55:604-608. <https://doi.org/10.1007/s002530000551>

Safari, Sinegani, A.A., Ghanbari, M., Janjan, A. (2009). Improvement of digestibility of sunflower and corn residues by some saprophytic fungi. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 11:293-298. <https://doi.org/10.1007/s10163-009-0245-5>

Sain, S.K., and Pandey, A.K. (2016). Evaluation of Some *Trichoderma harzianum* isolates for the management of soilborne diseases of brinjal and okra. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: *Biological Sciences*, 1:1-10. <https://doi.org/10.1007/s40011-016-0824-x>

Sandhya, C., Binod, P., Nampoothiri, K.M. y col. (2005). Microbial synthesis of chitinase in solid cultures and its potential as a biocontrol agent against phytopathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 127:1-15. <https://doi.org/10.1385/A BAB:127:1:001>

Sanzani, S.M., Reverberi, M., Geisen, R. (2016). Mycotoxins in harvested fruits and vegetables: insights in producing fungi, biological role, conducive conditions, and tools to manage postharvest contamination. *Postharvest Biology and Technology*, 122:95-105. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.07.003>

Sempere, F., Santamarina, M.P. (2007). In vitro biocontrol analysis of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler under different environmental conditions. *Mycopathologia*, 163:183-190. <https://doi.org/10.1007/s11046-007-0101->

x

- Sriwati, R., Melnick, R.L., Muarif, R. y col. (2015). Trichoderma from Aceh Sumatra reduce Phytophthora lesions on pods and cacao seedlings. *Biological Control*, 89:33-41. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.04.018>
- Szabo, L.J., Cuomo, C.A., Park, R.F. (2014). *Puccinia graminis*. Pp:177-196. In: Dean R, Lichens-Park A, Kole C (eds.). Genomics of Plant-Associated Fungi: Monocot Pathogens. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Alemania. 201 p. https://doi.org/10.1007/978-3-662-44053-7_8
- Toghueo, R.K., Eke, P., Zabalgoceazcoa, I. y col. (2016). Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic Trichoderma spp. from Terminalia catappa against the causative agent of common bean root rot (Fusarium solani). *Biological Control*, 96:8-20. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.01.008>
- Tosa, Y., Chuma, I. (2014). Classification and parasitic specialization of blast fungi. *Journal of General Plant Pathology*, 80:202-209. <https://doi.org/10.1007/s10327-014-0513-7>
- Troian, R.F., Steindorff, A.S., Ramada, M.H.S. y col. (2014). Mycoparasitism studies of Trichoderma harzianum against Sclerotinia sclerotiorum: evaluation of antagonism and expression of cell wall-degrading enzymes genes. *Biotechnology Letters*, 36:2095-2101. <https://doi.org/10.1007/s10529-014-1583-5>
- Tronsmo, A., Dennis, C. (1977). The use of Trichoderma species to control strawberry fruit rots. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 83:449-455. <https://doi.org/10.1007/BF03041462>
- Van Dam, N.M., Weinhold, A., Garbeva, P. (2016). Calling in the dark: the role of volatiles for communication in the rhizosphere. Pp:175-210. In: Blande J, Glinwood R (eds.). Deciphering Chemical Language of Plant Communication. Signaling and Communication in Plants. Springer International Publishing Switzerland. 326 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-33498-1_8
- Viterbo, A., Ramot, O., Chernin, L. y col. (2002). Significance of lytic enzymes from Trichoderma spp. in the biocontrol of fungal plant pathogens. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81:549-556. <https://doi.org/10.1023/A:1020553421740>
- Widmer, T.L. (2014). Screening Trichoderma species for biological control activity against Phytophthora ramorum in soil. *Biological Control*, 79:43-48. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.08.003>
- Xie, L., Zhao, J., Wu, J. y col. (2015). Efficient hydrolysis of corncob residue through

cellulolytic enzymes from *Trichoderma* strain G26 and L-lactic acid preparation with the hydrolysate. *Bioresource Technology* 193:331-336. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.101>

Yang, H.H., Yang, S.L., Peng, K.C. y col. (2009). Induced proteome of *Trichoderma harzianum* by *Botrytis cinerea*. *Mycological Research* 113:924-932. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.04.004>

Yang, L., Yang, Q., Sun, K. y col. (2010). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of SOD gene to *Trichoderma harzianum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26:353-358. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0182-4>

Yang, L., Yang, Q., Sun, K. y col. (2011). *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of ChiV gene to *Trichoderma harzianum*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 163:937-945. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9097-7>

Zhang, X., Li, X., Xia, L. (2015). Heterologous expression of an alkali and thermotolerant lipase from *Talaromyces thermophilus* in *Trichoderma reesei*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 176:1722-1735. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1673-4>